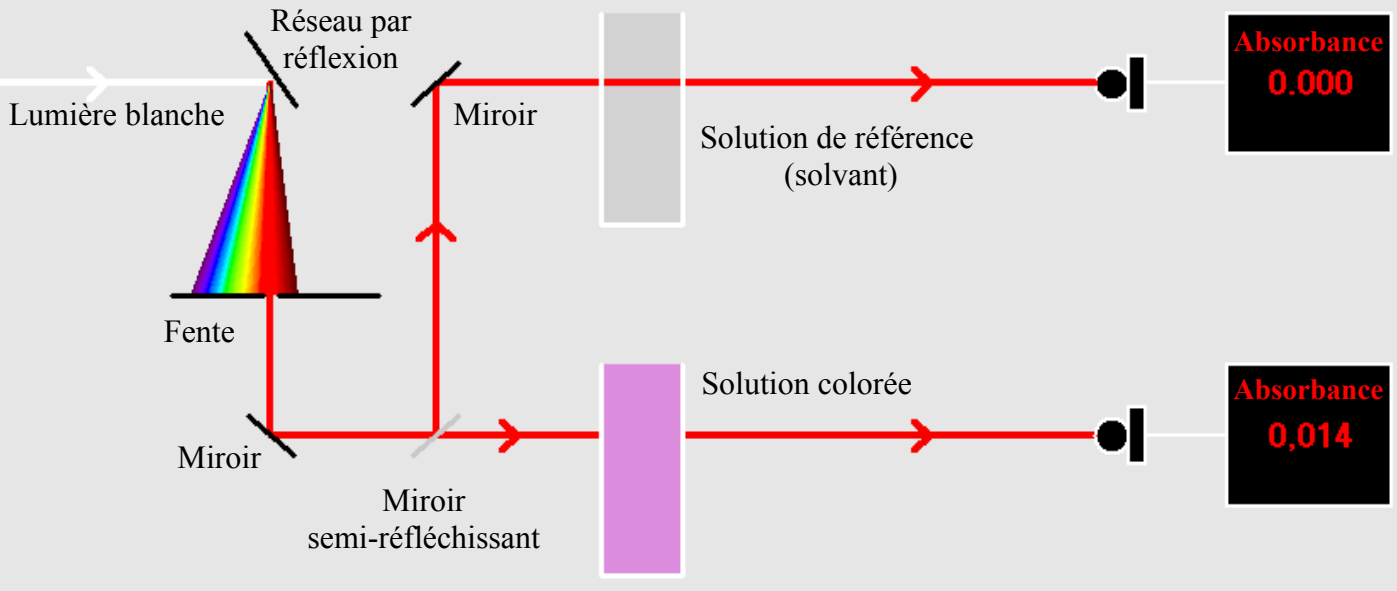
TP 1 : Spectrophotométrie UV-visible

Objectifs : Comprendre le principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre.
Mettre en œuvre un protocole expérimental pour caractériser une espèce colorée.
Exploiter un spectre UV-Visible.
Relier la couleur d'une espèce au maximum d'absorption d'une espèce chimique (Rappel)

I°) Principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre

Dans un spectrophotomètre, la solution contenant une espèce colorée est éclairée par un faisceau considéré comme monochromatique de longueur d'onde λ choisie.



Pour chaque longueur d'onde choisie, l'appareil mesure une grandeur appelée **Absorbance** à partir de la comparaison de l'intensité lumineuse mesurée après l'échantillon colorée et de l'intensité lumineuse mesurée après un échantillon de référence (le solvant en général). L'absorbance est un nombre sans unité.

II°) Problème avec des bonbons *Stroumpf* ®

(c'est stroumpfement bon!)

Les confiseurs utilisent des colorants alimentaires variés toujours dans le but d'attirer le consommateur tout en respectant la réglementation.

Les recherches sur les colorants alimentaires sont toujours très importantes. L'Union Européenne a fixé pour tous les colorants du marché des ***Doses Journalières Admissibles (DJA)*** que les consommateurs sont invités à respecter. En voici quelques exemples. Les DJA sont indiqués en *mg* de produit absorbable par *kg* de masse corporelle.

Colorants bleus	*Bleu Patenté V (E131)*	*Carmin d'Indigo (E132)*	*Bleu Brillant (E133)*
Formule brute	$C_{27}H_{31}N_2NaO_7S_2$	$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$	$C_{45}H_{44}N_3NaO_7S_2$
Masse molaire (g.mol^{-1})	582,66	466,36	825,97
DJA	2,5	5,0	10

Un consommateur de **60 kg** cherche à savoir combien de bonbons Stroumpf ® il peut consommer sans risque pour sa santé. On supposera que le colorant est le constituant le plus critique comme entrant dans la composition du bonbon.

a°) Quel est le colorant présent dans le bonbon ?

Principe :

Pour savoir quel est le colorant présent dans le bonbon, vous allez réaliser le spectre UV-visible du bonbon et le comparer à celui des 3 colorants: ***Bleu Patenté (E131), Indigotine (E132), Bleu Brillant (E133)***.

♠ *Dissoudre dans un bécher contenant environ 50 mL d'eau chaude,* ***1*** *bonbon Stroumpf ®.*
♠ *Remuer de temps en temps pour homogénéiser.*
♠ *Quand la dissolution est complète, rajouter un peut d'eau froide et verser le tout dans une fiole de 100 mL et compléter jusqu'au trait de jauge.*

Au bureau se trouve 3 solutions des colorants précédents de concentration $C = 3{,}40 \times 10^{-5}\ mol.L^{-1}$.
Ces solutions sont trop concentrées pour passer directement dans le spectrophotomètre.

1°) Quelle opération faut-il réaliser pour diminuer leur coloration ?

2°) Ici il faut réaliser ***une dilution par 25*** de ces solutions mères. Qu'est-ce que cela signifie diluer 25 fois ? Donner le matériel nécessaire ainsi que le protocole. Après vérification par le professeur réaliser ces trois dilutions**.**

- Placer quelques mL de ces solutions dans les cuves à spectrophotométrie (attention aux doigts) .
- Placer également une cuve contenant l'éluant, ici de l'eau distillée.
- Placer également la solution du bonbon Stroumpf ®.

3°) Réaliser les spectres des 4 solutions (voir mode d'emploi du spectrophotomètre), imprimer vos résultats si possible. En déduire alors quel est l'indicateur présent dans le bonbon.

b°) Quelle est la quantité du colorant dans le bonbon ?

Dans cette partie on cherche à déterminer la quantité de colorant présent dans un seul bonbon. Pour cela vous allez réaliser une ***échelle de teinte*** pour établir la loi de ***Beer Lambert*** et ainsi remonter à quantité de colorant présent dans le bonbon.

1°) Réaliser successivement 5 dilutions de la solution mère du colorant contenu dans le bonbon.
Pour connaître les volumes à prélever recopier et compléter le tableau suivant sur votre compte rendu.

Concentration finale (solution fille) mol.L^{-1}	Solution diluée 25 fois précédemment $1{,}36\times10^{-6}$	$1{,}10\times10^{-6}$	$8{,}16\times10^{-7}$	$5{,}44\times10^{-7}$	$2{,}72\times10^{-7}$
Volume à verser en mL (de la solution mère)	10				
Volume final en mL	10	10	10	10	10

- Réaliser les dilutions, pour cela utiliser les burettes graduées: ***une contenant la solution mère et l'autre de l'eau distillée.*** Vos dilutions se feront dans des tubes à essais.

2°) Mesurer ensuite l'absorbance **A** de ces solutions et tracer le graphique montrant l'évolution de A en fonction de la concentration **C**. Que constatez-vous ? Énoncer alors la loi de Beer Lambert.

3°) En déduire alors la valeur de la concentration C_b du colorant contenu dans un bonbon.

4°) En déduire alors la masse du colorant dans ce bonbon. (***Rappel :*** le bonbon a été dissous dans 100 mL d'eau)

5°) En déduire alors le nombre de bonbons que peut manger la personne de 60 kg.